

# Restaurování restaurovaného pomocí enzymů

Ing. Jakub Havlín, Doc. Ing. Petr Kotlík, CSc.,  
Ing. Vojtěch Spiwok, PhD., Ing. Martina Hucková

KONTAKT: [HavlinKuba@seznam.cz](mailto:HavlinKuba@seznam.cz)



## ÚVOD

K odstraňování materiálů používaných v minulosti při restaurování se dnes přistupuje z různých důvodů. Jedním z nich je nevhodný výběr použité látky či směsi různých látek. Tento nevhodný výběr jde často ruku v ruce s nevhodnými podmínkami uložení ošetřené památky. Podmínky, z nichž asi největší roli zde má vlhkost a teplota, významně přispívají k degradaci a napadnutelnosti zmiňovaných materiálů mikroorganismy.

Mnoho takto v historii použitých materiálů je velmi obtížné odstranit. Často je procedura odstraňování namáhavá, k původnímu materiálu málo šetrná a někdy vede dokonce k nevratnému poškození ošetřovaného objektu. Jednou z cest, která může být pro některé případy velice šetrná, je použití enzymů. Metoda použití enzymů nabývá opravdu významné přednosti zvláště v situacích, kdy má odstraňovaná látka odlišnou chemickou strukturu od dalších částí ošetřovaného objektu.

Při zvýšené opatrnosti existuje v některých případech cesta jak odstranit i materiál, který je v těsném kontaktu s jiným materiálem, s podobnou chemickou strukturou, jenž chceme zachovat. Vybrané konkrétní případy využitelnosti enzymů v praxi restaurátorů a konzervátorů jsou uvedeny níže.

## ENZYMY

Enzymy jsou bílkoviny specializované na katalýzu některých chemických reakcí. Stejně jako katalyzátory používané v chemii enzymy vstupují do reakce, urychlují ji a nezměněné z ní vystupují. Oproti uměle připraveným katalyzátorům mohou enzymy zvýšit rychlost reakcí až o několik řádů.<sup>1</sup>

Enzymy se obecně vyznačují vysokou selektivitou. Daly by se přirovnat k „řízeným střelám“, které napadají pouze určité vazby v určitých látkách. Míra selektivity je dána konkrétním enzymem, resp. jeho chemickou strukturou. Zatímco některé jsou schopny působit na určitý typ vazby pouze v jediném typu molekuly, jiné mohou štěpit specifickou vazbu, která je přítomna v molekulách různých přírodních i syntetických látek. Enzymy jsou často schopny efektivně pracovat za mírných podmínek (především teploty a pH).<sup>1,2</sup>

Největší význam pro použití v památkové péči mají enzymy patřící do třídy hydrolas, katalysujících hydrolytické štěpení některých chemických vazeb. Z charakteru takto probíhajících reakcí vyplývá, že k jejich průběhu je bezpodmínečně nutná přítomnost vody. Mechanismus působení hydrolas si lze představit tak, že část hydrolyzovaného substrátu (XY) je přenášena na molekulu vody.<sup>1</sup>



Mezi využívané hydrolasy patří proteasy schopné štěpit peptidové vazby v bílkovinách. Jejich účinek je tedy možno využít pro odstraňování materiálů, jejichž podstatou jsou bílkoviny, jako je například klíž, želatina, kasein, ale i jejich kombinací s jinými materiály jako například adheziva na bázi klišu a škrobu atd. Dalším typem hydrolas jsou amylasy štěpící glykosidické vazby u škrobu, glykogenu, dextranu a dalších oligosacharidů a polysacharidů. Třetí skupinou enzymů jsou tzv. esterasy schopné štěpit esterové vazby. Hydrolyzují různé typy olejů, některé pryskyřice jako např. benátský balzám a další. Některé publikace uvádějí také možnost, že jsou schopny hydrolyzovat esterové vazby přítomné v syntetických polymerních látkách. Z materiálů významně používaných v restaurátorské praxi to jsou především akryláty a jejich kopolymery (např. Paraloid B 72, Sokrat 2802 apod.) či polyvinylacetát a jeho kopolymery (např. BEVA ad.). Nejznámějšími esterasy jsou enzymy typu lipasy.

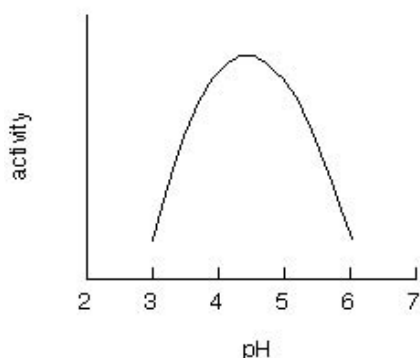
Většina uvedených látek, na které jsou enzymy schopny působit, byla v minulosti využívána při restaurování ať už samostatně či ve směsi s látkami jinými.

### PODMÍNKY ÚČINNOSTI ENZYMŮ

U enzymových reakcí, jako u většiny chemických reakcí, roste s teplotou i jejich rychlost. Při vyšších teplotách však současně dochází k deaktivaci enzymu v důsledku jeho denaturace. Výsledkem těchto dvou protichůdných dějů je pak maximum na křivce závislosti aktivity enzymu na teplotě, kterému říkáme optimální teplota enzymu.

Vliv hodnoty pH roztoku na aktivitu enzymů má podobný charakter jako působení teploty. Většina enzymů proto působí s velmi vysokou katalytickou účinností jen v určité oblasti pH a mimo ni jejich účinnost klesá. Proto má závislost enzymatické reakce na pH (stejně jako závislost na teplotě) tvar zvonovité křivky (viz Obrázek 1). Její maximum odpovídá optimálnímu pH, v němž je aktivita enzymu nejvyšší. Změnou pH a teploty lze tedy účinně regulovat aktivitu enzymu.<sup>1</sup>

Pro účinné využití enzymů není vždy nutné dosáhnout optimálních podmínek. Aktivita enzymů bývá často uspokojivá i za mírných podmínek (pokojové teploty a neutrálního pH) – mimo optimální hodnoty těchto veličin.



Obrázek 1. Závislost enzymatické aktivity reakce na pH

### DEAKTIVACE ENZYMŮ

Aktivita enzymu může být přerušena chemickou či fyzikální cestou. Denaturace je obvykle dosahováno extrémní změnou hodnoty pH nebo teploty, vysušením enzymu, použitím rozpouštědel (např. ethanolu, acetonu, benzínu atd.) nebo použitím povrchově aktivních látek (sulfátů ad.).<sup>3</sup>

Pro deaktivaci enzymů použitých na památkových objektech je důležité předem zvážit možné důsledky vybraného způsobu denaturace, aby jím byl ošetřovaný objekt co nejméně poškozen. Například deaktivace enzymu pouhým vysušením je ve většině případů jen krátkodobým dočasným řešením. Pozůstatky enzymu by mohly být později znovu aktivovány vzdušnou vlhkostí. Použití vyšších teplot by na druhou stranu mohlo památku poškodit. Při použití organických rozpouštědel, vody či povrchově aktivních látek je třeba dbát na to, aby tato činidla nepoškodila jinou část či vrstvu ošetřovaného objektu. V restaurátorské praxi jsou pro zastavení účinnosti enzymů nejvíce využívány tři základní činidla. Prvním z nich je horká voda. Tato metoda je jednoduchá a nenákladná, nicméně dosažení teploty dostatečně vysoké pro zneškodnění enzymu nemusí být vždy šetrné k restaurované památce. Dalšími činidly jsou ethanol a technický benzín. Volba určitého činidla závisí na dalších materiálech vyskytujících se na ošetřovaném památkovém objektu. Podle známé poučky „podobné se rozpouští v podobném“ je možné se při výběru alespoň přibližně orientovat. Pokud je například potřeba ochránit podkladovou vrstvu obrazu tvořenou směsí křídu s křídou, je k deaktivaci dobré použít technický benzín nepolárního charakteru. Ethanol je naopak zástupcem polárních organických rozpouštědel.

### VÝHODY A NEVÝHODY POUŽITÍ ENZYMŮ

Používání enzymů v restaurátorské praxi pro odstraňování materiálů nevhodně užitých při předešlých restaurátorských zásazích má stejně jako i jiné metody svá pozitiva i negativa.

Mezi významné výhody zcela jistě patří vysoká selektivita enzymatického účinku a netoxický charakter enzymů. Naopak nevýhodami jsou poměrně vysoká cena enzymů (především velmi čistých produktů využívaných v biochemii a medicíně) a v některých případech nežádoucí možnost průniku enzymu do ošetřovaných objektů či riziko spojené s použitím organického rozpouštědla pro deaktivaci enzymu.

Částečné řešení uvedených nevýhod je nastíněno v následujících dvou odstavcích.

## PRŮMYSLOVĚ VYRÁBĚNÉ ENZYMY

Výrazného snížení dosti vysoké ceny enzymů lze dosáhnout využíváním komerčně užívaných, průmyslově vyráběných enzymů. Tyto enzymy jsou přidávány např. do pracích prostředků. Proto se zde samozřejmě vyskytují všechny tři typy enzymů využitelných při restaurování. Pro likvidaci bílkovinných skvrn a nečistot jsou užívány proteasy, proti látkám charakteru polysacharidů amylasy a proti olejům a tukům lipasy. Průmyslově vyráběné enzymy nacházejí své uplatnění i v jiných oborech jako je např. zpracování potravin apod.

## IMOBILIZACE ENZYMŮ

Z několika možných forem imobilizace enzymů zřejmě připadají pro restaurátorskou praxi v úvahu hlavně dvě z nich. Jednou je navázání molekul enzymu na jinou látku, tzv. nosič, pomocí fyzikálních vazeb. V tomto případě je do značné míry omezen pohyb enzymu a celá procedura enzymatického štěpení je lépe ovladatelná.

Druhou možností imobilizace je navázání enzymu na nosič v pevném stavu pomocí silných kovalentních vazeb. Je otázkou, zda takto vázané molekuly enzymu budou schopny se dostatečně přiblížit k molekulám odstraňované látky. Pro použití při restaurování je tato metoda zatím pouze hypotetická.<sup>4</sup>

## Vybrané konkrétní případy použití enzymů při restaurování dříve restaurovaných objektů

### OBRAZY

V oblasti restaurování obrazů jsou zřejmě nejvýznamnějšími restaurátorskými zásahy řešenými pomocí enzymů odstraňování klihoškrobových adheziv z rentoalážovaných pláten a odstraňování přemaleb barevné vrstvy plátna. Oběma případům se věnuje Dr. František Makeš působící ve Švédsku. V ČR se prvním z uvedených případů zabývá akademický malíř a restaurátor Martin Martan.

M. Martan se zabýval např. restaurováním poškozeného závěsného obrazu od J. F. Ermelse, který byl v minulosti rentoalážován pomocí klihoškrobového adheziva. Rentoaláž byla ještě zesílena papírovou mezivrstvou a dalším plátnem. Pro další restaurátorské práce bylo nutné odstranění plátna, papíru a dokonalé odstranění zbytků adheziva z vazby původního plátna. Nedokonalé odstranění adheziva by mohlo způsobit napadení ošetřovaného plátna mikroorganismy. Klihoškrobový lep je příhodnou živnou půdou zvláště pro plísně. Restaurátor v tomto případě použil tzv. Krillové enzymy podle postupu Dr. Makeše. Po jejich 10 minutovém působení byly narušené zbytky lepidla odsáty a v místech se silnější vrstvou adheziva byl postup znovu opakován. Aktivita použitých enzymů byla zastavena technickým benzínem.<sup>5</sup>

Pro odstranění klihoškrobových rentoaláží pomocí enzymů byla na VŠCHT chemicky ověřena účinnost průmyslově vyráběného enzymu Alcalase (fotografie enzymatického účinku jsou k nahlédnutí v příloze). Směsi enzymů nevykazovaly vyšší účinek při odstraňování adheziva složeného z několika různých látek. Výzkum je v tomto směru nyní zaměřen na způsob aplikace enzymu fyzikálně imobilizovaného ve formě pasty či gelu a jejich následného používání za přítomnosti mezivrstvy papíru s velkými póry, případně netkané textilie pro omezení průniku enzymu do ošetřovaného objektu. Tento způsob aplikace byl inspirován systémem „Albertina-Kompresse“ popsáným dále.

Sv. Zachariáš a čtyři andělé je malba vaječnou temperou na dřevěné podložce, pocházející z 15. století. V roce 1966 byla poničena záplavami a ošetřena při restaurování olejovo-pryskyřičným lakem s dalšími přísadami (vosk, šelak, syntetická pryskyřice a Paraloid B 72). Malba byla znovu restaurována roku 1998. Velký problém byl s odstraněním složité směsi laku, ke kterému nebylo použití silných zásad vhodné. Byl řešen pomocí lipasy získané z kvasnice *Candida cylindracea* vázané v gelu. Gel byl připraven z deionizované vody, pufru pro úpravu pH a zahušťovadla – methylcelulosy. Na povrchu objektu byl gel s enzymem udržován při 30 °C pomocí 40 W lampy. Touto metodou byla kompletně odstraněna vrstva nátěru i přes přítomnost akrylátu (Paraloidu B72).<sup>6</sup>

### PAPÍR

Jednou z nejpoužívanějších metod využívající enzymy v oblasti restaurování je systém „Albertina-Kompresse“. Tento systém vyvinutý pro aplikaci  $\alpha$ -amylasy, je již vyráběný komerčně. Je využíván při restaurování tisků lepených upravenými škrobovými pastami.

Výrobek je prodáván v suchém stavu. Skládá se z nosné vrstvy netkané textilie pokryté porézním papírem, na němž je gelová vrstva s malým obsahem enzymu. Systém se aktivuje přidáním minimálního množství vody. Papírová vrstva brání přímému styku gelu s ošetřovaným materiálem, ale propustí enzym a potřebnou vlhkost. Podle výrobce je množství zbylého enzymu tak nevýznamné, že není nutné ošetřovaný objekt dále oplachovat.<sup>7</sup>

## ZÁVĚR

Tento příspěvek by měl ukázat možnosti využití enzymů při restaurování dřívě restaurovaných objektů. Pro ilustraci široké oblasti použití enzymů byly uvedeny některé vybrané úspěšně provedené zákroky a techniky. Pro další vývoj a převádění metod využívajících enzymů do praxe je nutná spolupráce restaurátorů a technologů při řešení konkrétních případů. Nutnou součástí enzymatických procedur je také detailní průzkum ošetřovaného objektu.

## LITERATURA

1. VODRÁŽKA Z., RAUCH P., KÁŠ J.: *Enzymologie*, VŠCHT, Praha, 1998
2. VODRÁŽKA, Z.: *Biochemie*, Akademia, Praha, 1999
3. ERICSSON, H., E.: *Usage recommendations for  $\alpha$ -Amylases: Maximizing enzyme activity while minimizing enzyme-artifact binding residues*, Harry Randim Humanities Research Center, Austin, 2002
4. WISEMAN A. a kol.: *Příručka enzymové technologie*, SNTL, Praha, 1980
5. MARTAN M.: *Restaurátorský postup a praktické využití enzymů při restaurování obrazu, využití enzymů při odstraňování klišoškrabové rentoaláže*, Sborník z konzervátorského a restaurátorského semináře, Brno, 2003, 30-31
6. BELLUCCI R., CREMONESI P., PIGNAGNOLI G.: *The removal of aged acetylic resin coatings with lipase*, *Studies and Conservation* 44, 1999, 278-281
7. SCHWARZ, I.: *A pre-packaged  $\alpha$ -amylase polutining system: Albertina-Kompresse. The Book and Paper Conservation Program and Current Research*, Academy of Art and Design, Stuttgart, 2000

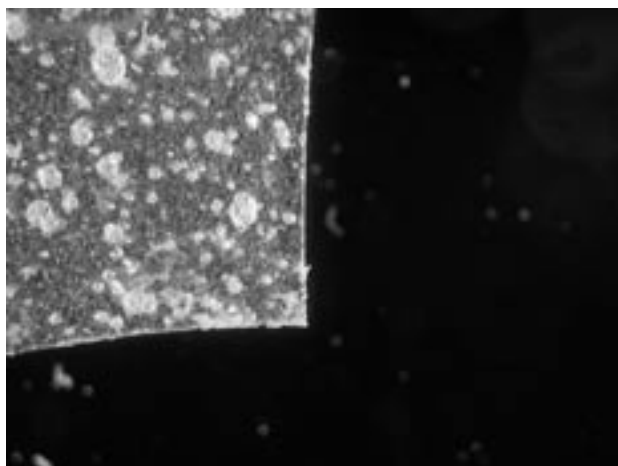


Foto 1. Fragment klišoškrabového adheziva pozorovaný v dopadajícím šikmém světle

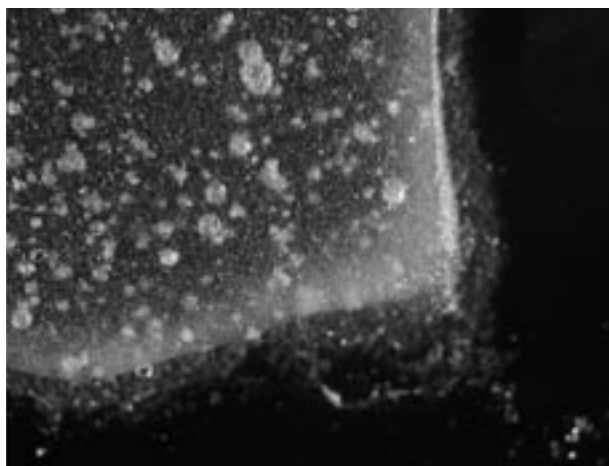


Foto 2. Fragment klišoškrabového adheziva pozorovaný v dopadajícím šikmém světle; 15 minutové působení enzymu Alcalase temperovaného na teplotu 50 °C

BAREVNÉ REPRODUKCE TĚCHTO NÁHLEDŮ NALEZNETE V OBRAZOVÉ PŘÍLOZE V ZÁVĚRU SBORNÍKU (NA STRANĚ 45).

## Restaurování restaurovaného pomocí enzymů

Ing. Jakub Havlín, Doc. Ing. Petr Kotlík, CSc.,  
Ing. Vojtěch Spiwok, PhD., Ing. Martina Hucková

6

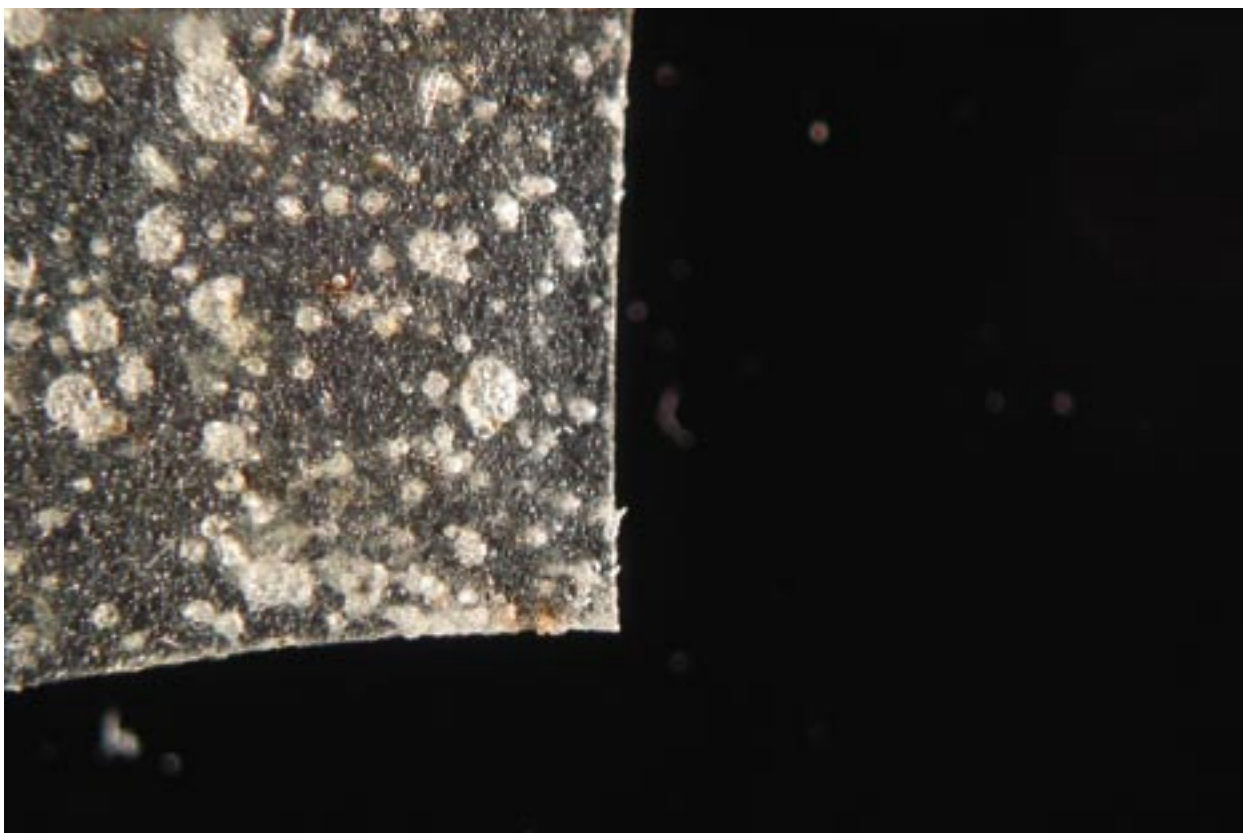


Foto 1. Fragment klišoškrabového adheziva pozorovaný v dopadajícím šikmém světle

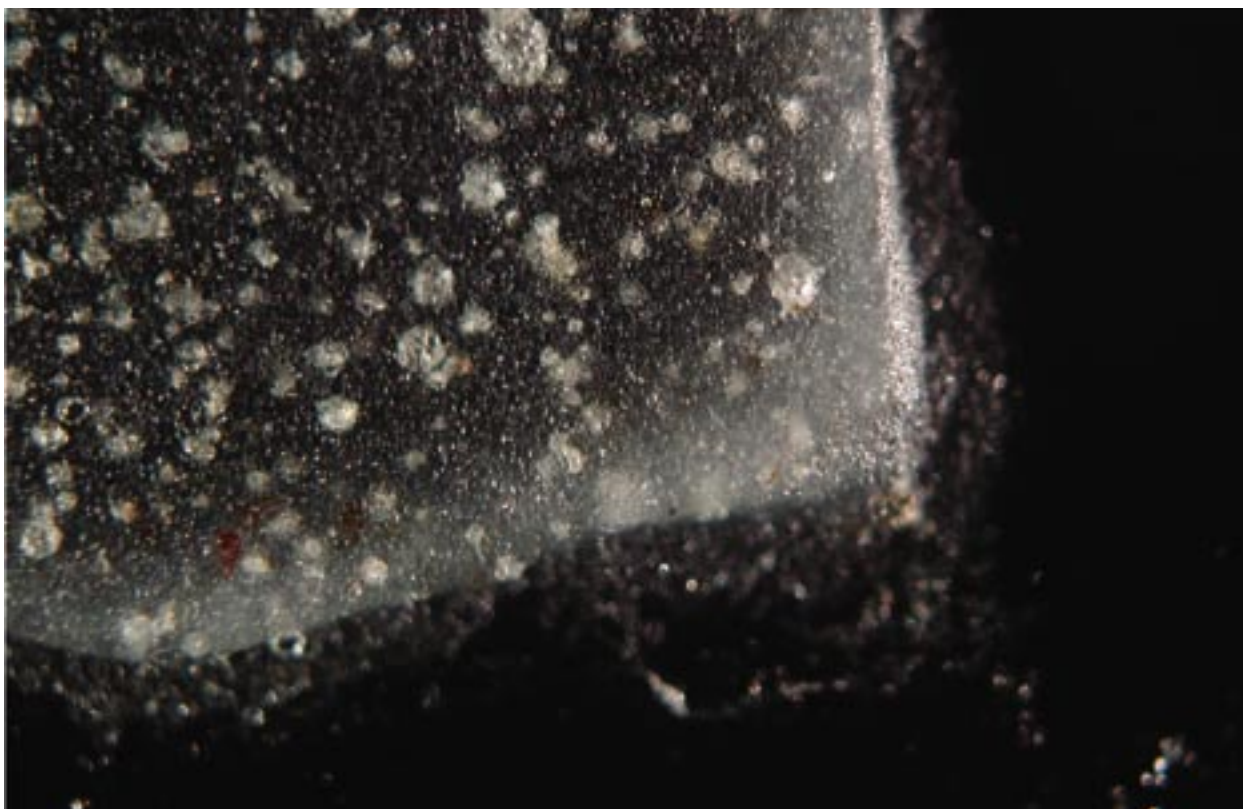


Foto 2. Fragment klišoškrabového adheziva pozorovaný v dopadajícím šikmém světle; 15 minutové působení enzymu Alcalase temperovaného na teplotu 50 °C